

Az ionkromatográfia retenciós elmélete és alkalmazásai a kémiai analízisben

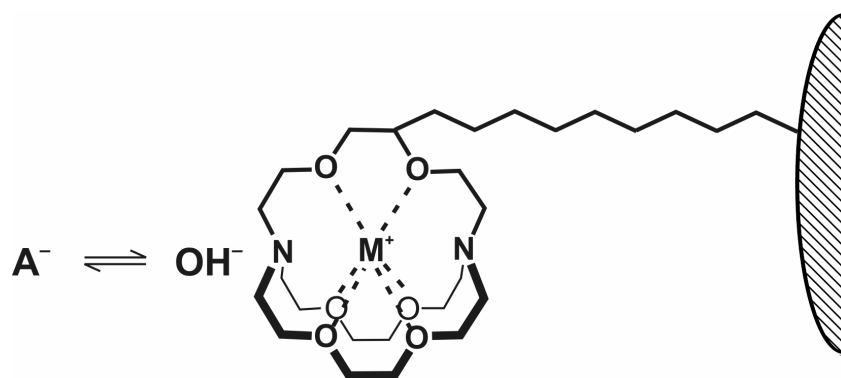
OTKA zárójelentés

1. Makrociklusos anioncserélők vizsgálata és folyadékkromatográfias módszer fejlesztése oxoanionok, halogenidek és haloecetsavak elválasztására. Retenció becslése és kísérleti igazolása

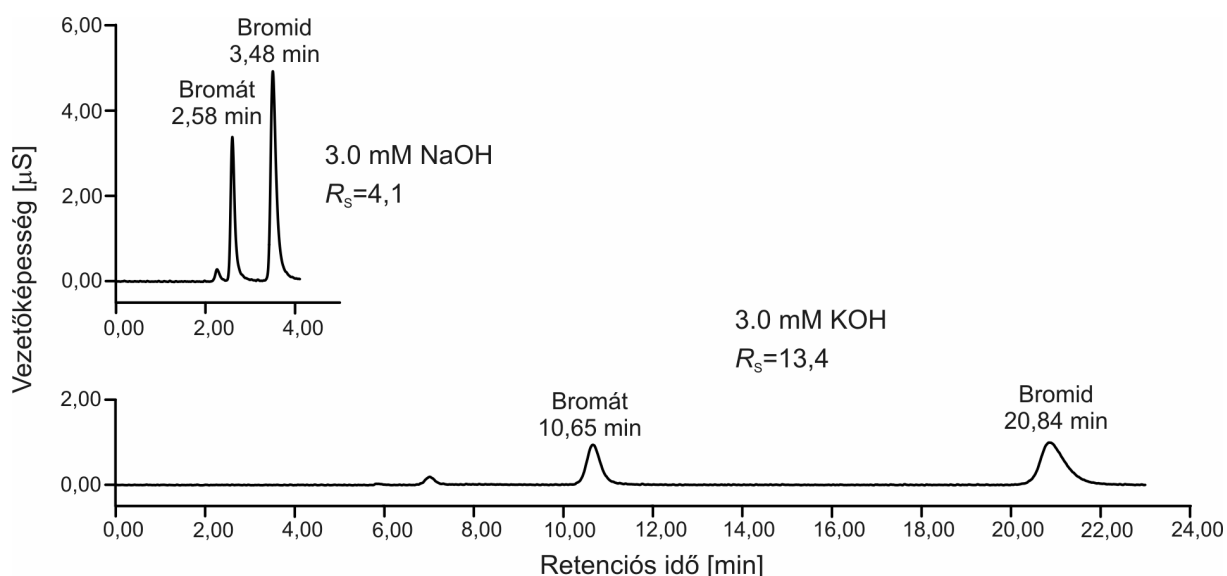
Az ivóvizek mikrobiológiai szennyeződéseinek hatékony kezelése általában klórozó reakcióval történik. Ugyanakkor e folyamat során a klór a vízben természetesen előforduló több szerves anyaggal is reakcióba lép és ezáltal széles variációit adja a klór tartalmú melléktermékeknek. Hasonló melléktermékeket adhat a vízben eredendően jelenlevő bromid is. Ezeknek a halogénezett szerves anyagoknak jelentős részét az ún. haloecetsavak (HAAs) képezik, amelyek potenciálisan karcinogén és mutagén hatásúak. Nagyhatékonyságú ionkromatográfias módszert fejlesztettünk ki nyolc halogénezett ecetsav (monokloro-, dikloro-, trikloro-, monobromo-, dibromo-, tribromo-, monokloro-monobromo-, monokloro-dibromo-ecetsav) analitikai elválasztására makrociklikus tulajdonságú polimer állófázison, vezetőképességi detektálással. A környezeti minták analízise során fontos feladat az ehhez hasonló kompozíciójú minták gyors vizsgálata, amely egyéb kromatográfias módszerrel (ionkizárás, ion-pár) csak korlátozott szelektivitással lehetséges. Ugyanakkor a makrociklikus (D222) anioncserélő kémiai szerkezete, komplexálása az eluensek különböző alkáli ionjaival, a pH változtatása lehetőséget adtak az elválasztások szelektivitásának javítására.

Makrociklus alapú, n-decyl-2.2.2 cryptand (D222) (1. ábra) összetételű anioncserélő anyag retenciós tulajdonságait ill. az anioncserélő réteg komplexálással kialakítható körülményeit tanulmányoztuk abból a célból, hogy változtatható ioncsere kapacitású elválasztó rendszert fejlesszünk ki. Az így előállt kromatográfias rendszer előnye, hogy az izokratikus, állandó koncentrációjú elúció körülményei között is lehetőség van a retenció értékét, így az elválasztás minőségét szabályozni. Megállapítottuk, hogy a K^+ ill. Na^+ ionméretek különbségéből adódóan különböző erősségű és kapacitású anioncserélő réteg komplexálható a makrociklusban és az ilyen fázisokon az anionok retenciója lényegesen eltér (2. ábra). Eredményeink azt mutatják, hogy KOH eluens használatakor az egyes anionok retenciója lényegesen nagyobb, mint NaOH-s elúció esetén, abból adódóan, hogy a K^+ ion egy nagyságrenddel nagyobb komplexképződési állandójának következtében nagyobb ioncsere kapacitás alakul ki. A NaOH eluens koncentrációját változtatva 1-100 mM tartományban, a 4 mM eluens koncentráció esetén a retenció maximális értékű, kisebb

koncentrációkon az oszlop ioncsere kapacitása még nem elég nagy, míg nagyobb koncentrációknál a mozgófázis elúciós erejének köszönhetően jelentősen csökken a retenció mértéke. A KOH eluent használva retenciós maximumot nem tapasztaltunk. Mindez arra utal, hogy már egész kis K^+ koncentráció esetén az oszlopra felvitt makrociklus telítődik, kialakul az oszlopra jellemző maximális ioncsere kapacitás. Az így előállt makrociklusos anioncserélőket haloecetsavak és szervesetlen anionok (bromát, klorid, nitrit, bromid, nitrát, szulfát, foszfát) gyors analitikai elválasztásában alkalmaztuk. A fentiekből következően az az előnyös elválasztási tulajdonság figyelhető meg, hogy az eluens minőségének ill. koncentrációjának változtatásával (K^+/Na^+) gradiens tulajdonságú elválasztási rendszer alakult ki.



1. ábra: n-decil-2,2,2-kriptand (D222) molekula retenciót befolyásoló ioncsere-egyensúlya az állófázisban

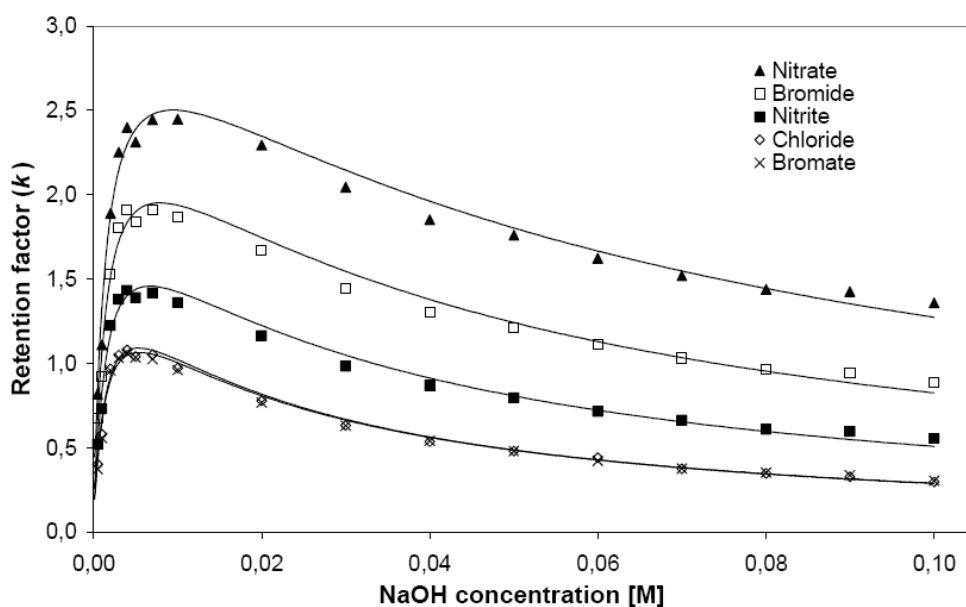


2. ábra: Az állófázis kapacitásbeli különbségének hatása (NaOH/KOH) bromát-bromid ionok elválasztására

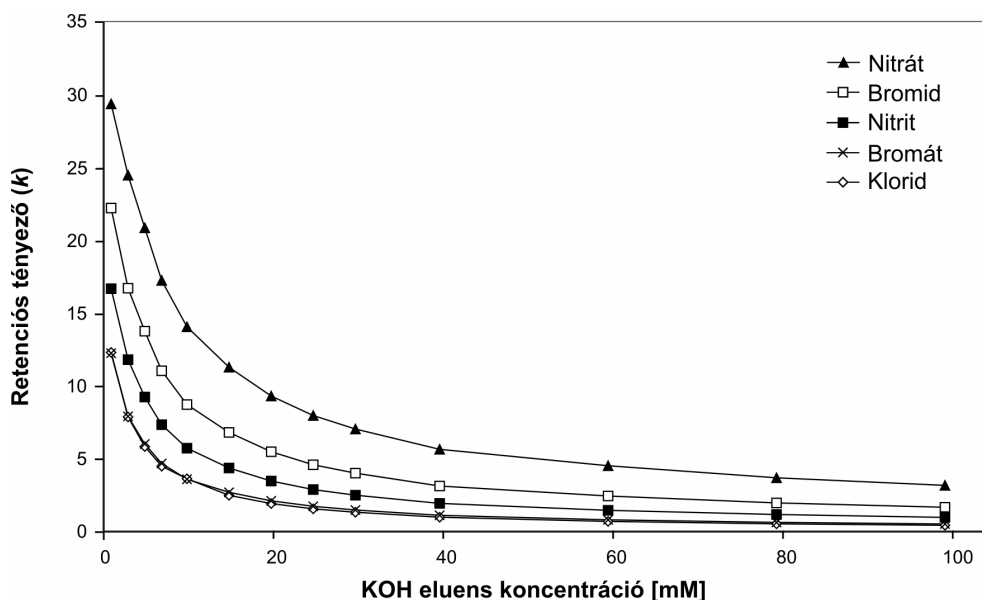
Makrociklusos állófázison történő elválasztások retenciós adatainak becslésére elméleti retenciós modellt vezettünk le (1. egyenlet), amely a komplexálást és a protonálás folyamatát is követi. Leírja a szimultán folyamatokat és az eluens koncentrációjának és minőségének hatásait a retenciós tényezőkre, amely analitikai minőségi információval szolgál. A modell paramétereit, konstansait az elméleti és a kísérleti adatok birtokában iterációs úton értékeltük (1. táblázat). Ezek jó egyezése (< 5%) (ld. 3. és 4. ábra) igazolja a haloecetsavak precíz meghatározási lehetőségét, ill. a módszer tervezhetőségét természetes vizekben, környezetből származó folyadékmintákban.

$$D_A = Q \frac{[M^+] K_M K_{M-A} + [H^+] K_1 K_{H-A}}{1 + [H^+] K_1 + [M^+] K_M (1 + [OH^-] K_{M-OH})} \quad (1)$$

(betűjelentéseket ld. 1. táblázatnál)



3. ábra: NaOH eluens koncentrációjának hatása szervesetlen ionok retenciós tényezőjére. Pont-jelek: mért értékek, vonalak: számított eredmények.



4. ábra: KOH eluens koncentrációjának hatása szervesetlen ionok retenció tényezőjére. Pont-jelek: mért értékek, vonalak: számított eredmények.

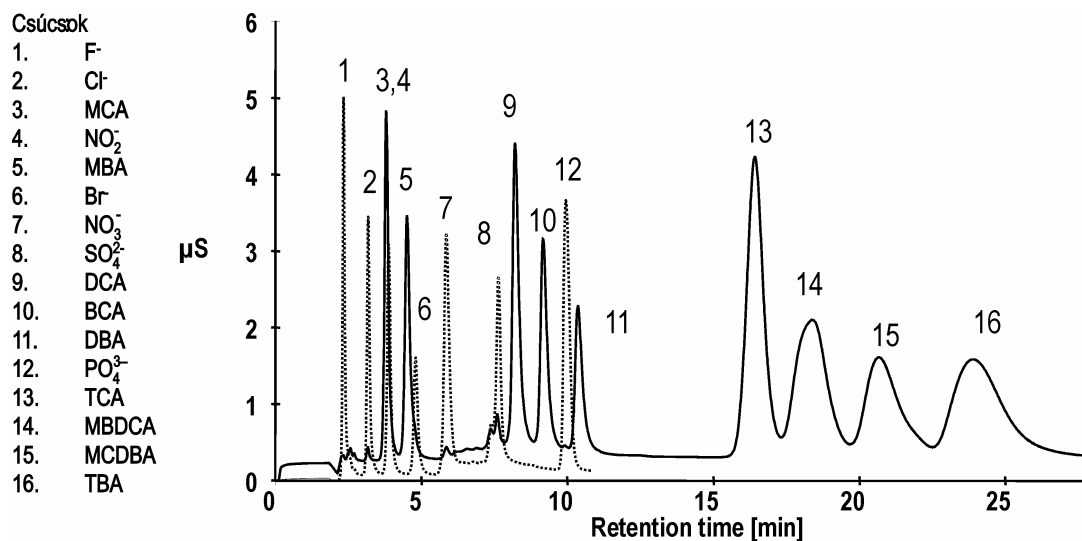
1. táblázat: Az elúciót befolyásoló egyensúlyi állandók meghatározása kísérleti adatokból történő iterációval

Constant	BrO_3^-	Cl^-	NO_2^-	Br^-	NO_3^-
K_1	1.08×10^{10} (RSD%=2.4%)				
K_{Na}	755.1 (RSD%=4.8%)				
K_{K}	23,860				
$K_{\text{Na-A}}$	12.5	12.9	16.1	20.6	25.3
$K_{\text{K-A}}$	136.8	141.8	173.3	218.9	274.2
$K_{\text{H-A}}$	3.6	2.2	1.9	2.6	5.2
$K_{\text{Na-OH}}$	45.0	47.0	30.2	21.6	15.1
$K_{\text{K-OH}}$	362.2	400.2	265.4	201.1	132.3

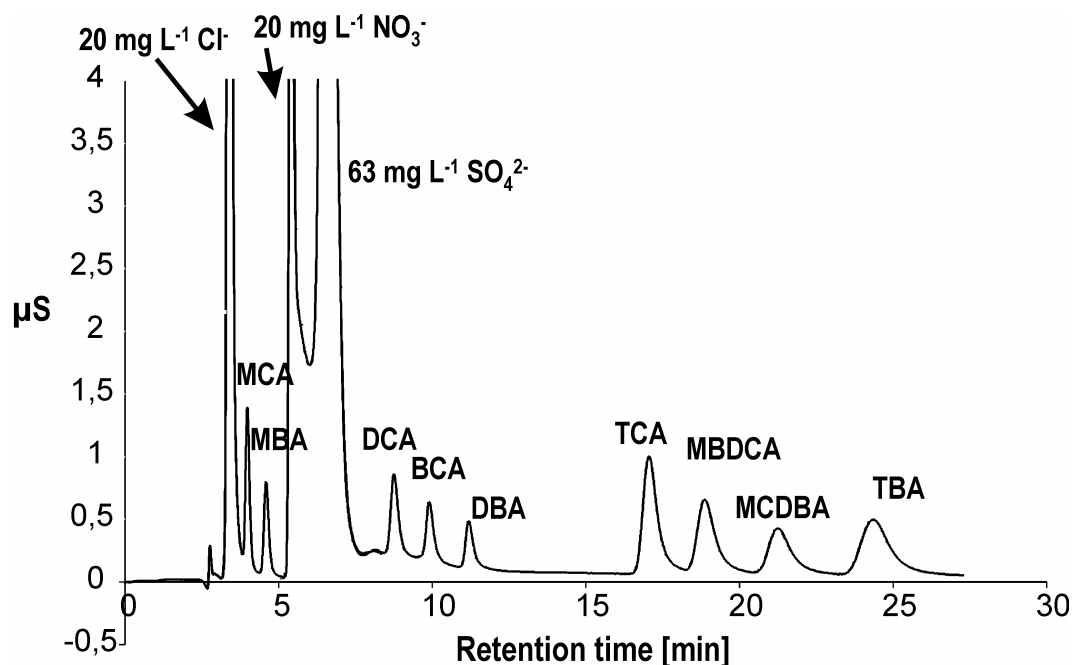
K_1 : D222 prot. áll.; K_{Na} és K_{K} : Na- és K-kriptát komplex stabilitási áll.;
 $K_{\text{Na,K,H-A,OH}}$: ioncs. áll.

Vizsgáltuk haloecetsavak retenció tulajdonságait széles koncentráció-tartományú nátrium- és lítium-hidroxid oldatok elúciójával. Az előbbi eluens izokratikus elúciója jó felbontást eredményezett, az utóbbi alkalmazása során az analízisidő kedvező volt. A két eluens előnyös tulajdonságainak együttes alkalmazására gradiens elúciós módszert dolgoztunk ki az eluens-összetétel és az eluens-változás időigényének optimalizálásával. A vizsgálatok igazolták, hogy az eluens összetétel-változásával a HAAs vegyületek analitikai elválasztása szabályozható, a hatékonyság és a felbontás jelentősen javul. Vizsgáltuk

szervetlen anionok esetleges zavaró hatásait a HAAs vegyületek elválasztására (5. ábra). A kedvező gradiens elúció során a meghatározást jelentősen befolyásoló tényezőt nem találtunk. Az eljárás célszerűen alkalmazható, mint hatékony és alternatív módszereknél nagyobb szelektivitást biztosító analitikai eljárás haloecetsavak vizsgálatára vizes oldatokban (6. ábra).



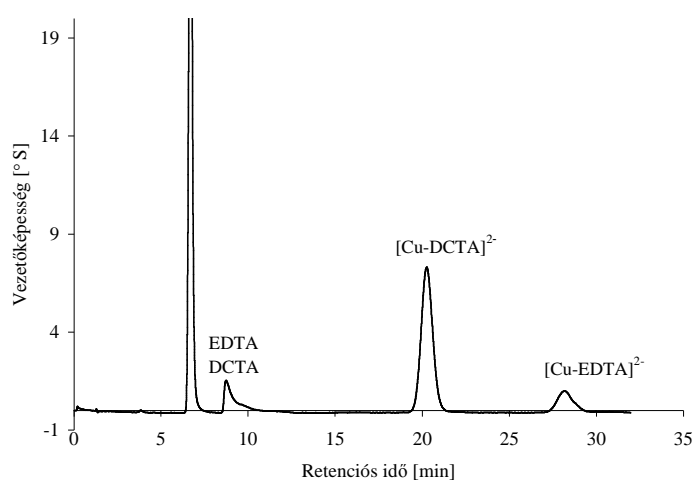
5. ábra: Haloecetsavak meghatározása gradiens makrociklikus állófázison.
Eluens: 10 mM NaOH/LiOH, step-gradiens: 3 min.



6. ábra: Ivóvíz haloecetsav tartalmának vizsgálata. (Elúció: ld. 5. ábra)

2. Nagyhatékonyságú ionkromatográfiás módszer fejlesztése komplexképző ligandumok, anionok és kationok szimultán analízisére

A fém-ligandum komplexek kialakítása és kölcsönhatásai szelektív HPLC elválasztásokra adnak lehetőséget. Munkánk során fém-kelát komplexek ionkromatográfiás meghatározására nagyhatékonyságú módszert fejlesztettünk ki pelliculáris anioncserélő oszlopon. Ezzel a módszerrel a ligandumok, mint anionok, a fémek, mint anionos komplexek szimultán kromatográfiás meghatározására nyílik mód. A szimultán analízis során 1 injektumból egyidejűleg a kationokra és anionokra vonatkozó kromatográfiás csúcs is észlelhető. A laboratóriumainkban kifejlesztett módszer különösen fontos komplex környezeti minták elemzésében. Ezek a komponensek vízzoldható komplexek (amino-polikarboxil savak, átmeneti- és nehézfémek), amelyek a talajt és a természetes vizeket is szennyezhetik. Laboratóriumi munkánkban fémek (Zn^{2+} , Cu^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} , Mg^{2+} , Ca^{2+}) és kelát ligandumok (EDTA, DCTA) szimultán elválasztását tanulmányoztuk. A ligandumok, a fémkomplexek és az egyszerű anionok retenciós sorrendjét a különböző fémek a különböző ligandumokkal alkotott stabilitási viszonyai és a bázikus eluens pH-ja szabályozza. A retenciót meghatározó tényezők a szimultán és kompetitív komplexképződés ill. a ligandum protolízise, továbbá a megoszlást létrehozó ioncsere folyamat. Kedvező körülmény, hogy az EDTA protonálódása az elúció pH-ján (9-11) minimális, így a komplex anion kialakulása nagy molarányú és pillanatszerűen mehet végbe. Ezek alapján a környezeti mintákból nemcsak a fémionok és egyszerű anionok, hanem a komplexképző ligandumok is vizsgálhatók (7. ábra).



7. ábra: Elválasztóoszlop: AS9-HC; eluens: 9,0 mM Na_2CO_3 ; $v = 1$ ml/min;
Cu-EDTA: $\lg\beta_1 = 18,8$; $\lg\beta_2 = 21,8$; $\lg\beta_3 = 21,2$; Cu-DCTA: $\lg\beta_1 = 21,3$; $\lg\beta_2 = 24,4$

3. Mátrixkompozíció hatásai az ionkromatográfiában. Retenció becslése és kísérleti igazolása.

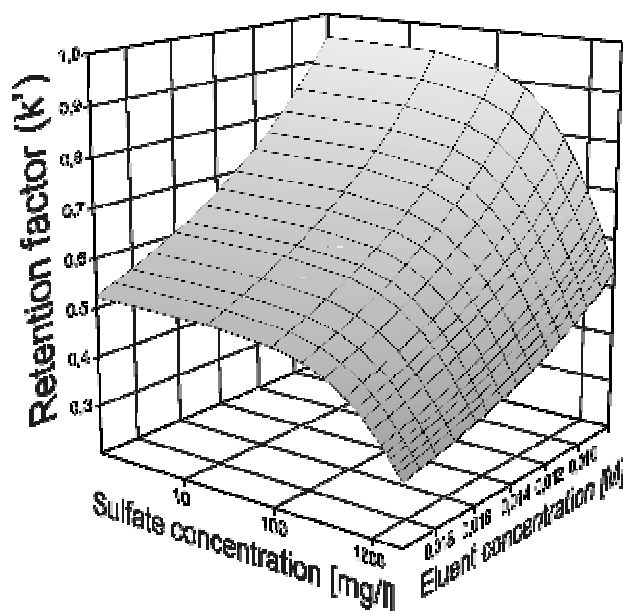
Egyensúlyi retenció elméletet írtunk le olyan mintakompozíciók esetére, amelyben a vizsgált komponensek moláris aránya rendkívül nagy. Az ilyen komponens arányú minták általában a természetes eredetűeknek megfelelőek és ez esetben – a nagy koncentrációjú komponens additív elúciós hatása miatt – a rendszer szelektivitása módosul ill. a minőségi analitikai információ torzul. Ennek a hatásnak a tisztázására és leírására a bromát anion kromatográfiás elemzésénél különösen nagy szükség van. A bromát, mint célvegyület - erős karcinogén tulajdonságai miatt - megbízható nyomanalízise kiemelt feladatnak tekinthető. Vizsgálatainkban a bromát/klorid/bromid/szulfát, etánszulfonát/pentán-szulfonát/nitrát/szulfát összetételű anionos minták retenció tulajdonságaira vonatkozó összefüggéseket adtuk meg különböző koncentrációjú nátrium hidroxidos elúciós körülmények figyelembevételével. A retenció számítások a mátrix retenció zavarát igazolták, amelyek erősen függenek az elúció körülményeitől (ld. 2. egyenlet és 8-11. ábra). Vizsgálatainkat szisztematikus kísérleti eredményekkel (2. ábra) igazoltuk, amelyben a számított és kísérleti retenció adatok eltérése $\leq 5\%$. Eredményeink alapján az ilyen és ehhez hasonló kémiai összetételű rendszerek megbízható elválasztási körülményei tervezhetők.

$$k'_{A^-} = \frac{V_{st}}{V_m} K_{A^-/OH^-} \frac{\sqrt{[OH^-]^2 + 8K_{M^{2-}/OH^-} [M^{2-}] Q} - [OH^-]}{4K_{M^{2-}/OH^-} [M^{2-}]} \quad (2)$$

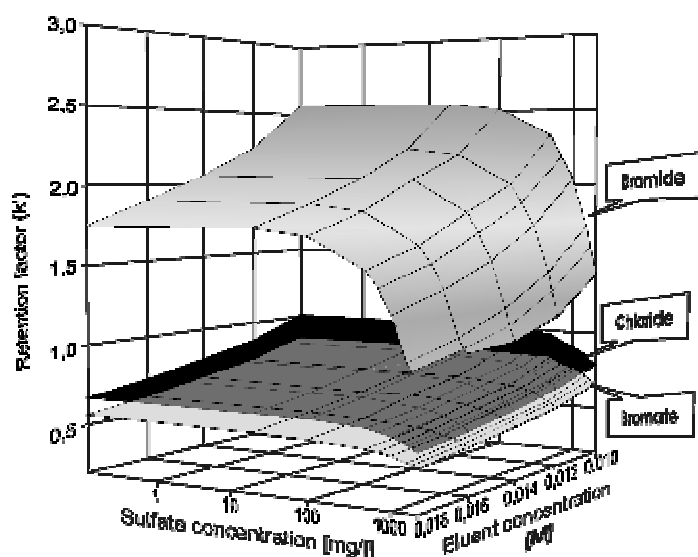
ahol k'_{A^-} a minta retenció tényezője, V_{st} ill. V_m az ioncserélő fázis ill. a mozgófázis térfogata, K_{A^-/OH^-} és K_{M^{2-}/OH^-} A^- mintaion és kétértékű M^{2-} mátrixanion adott oszlopra és eluens rendszerre vonatkozó szelektivitási állandói, Q az oszlop ioncsere kapacitása. $[]$ adott komponens oszlopon belüli moláris koncentrációját jelöli. A szelektivitási állandók a kísérleti adatokból iterációs úton kerültek meghatározásra.

A bromát szelektív meghatározásának fejlesztése rendkívüli érdeklődést vált ki napjainkban. Ennek oka, hogy egészségkárosító hatásai már nyom-mennyiségben is jelentősek. Ugyanakkor természetes ásványi és ivóvizekben a lehetséges alacsony koncentrációjú bromát nagy mennyiségű mátrixban (klorid, szulfát) található, amely nehézségeket okoz az analízisben. A bromát retenciója lényeges változást szenved a mátrix és

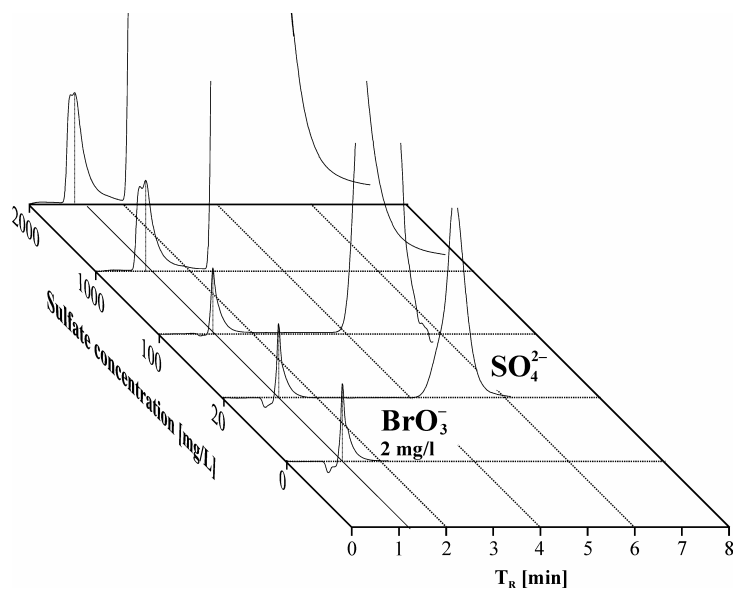
az eluens kompozíció változása során. Vizsgálataink kimutatták a retenciós csúszás jelentőségét e veszélyes komponens kvalitatív és kvantitatív analízisében NaOH-os (8-9. ábra) és Na_2CO_3 -as (10-11. ábra) elúció során is. Az ábrák figyelmeztető tanulsága, hogy a mátrixhatás elkerülése céljából a mintát hígítani kell, amelynek határát a bromát kimutathatósága befolyásolja.



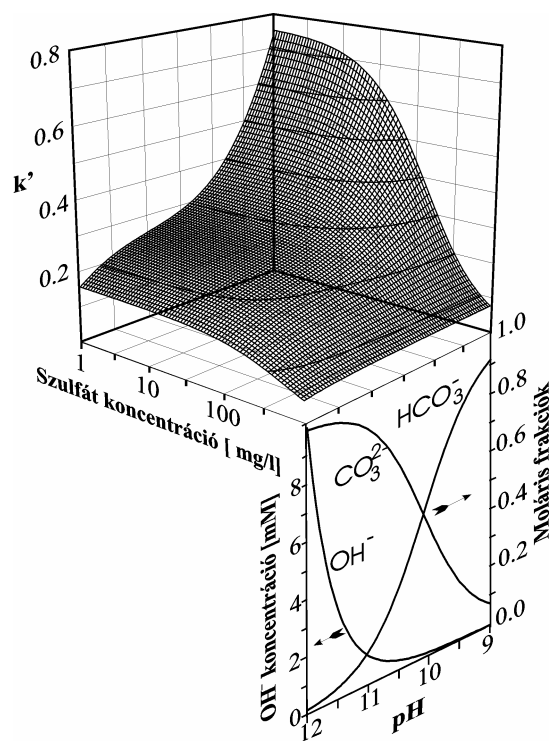
8. ábra: Bromát anion számított retenciós tényezői különböző NaOH- és mátrixkoncentráció esetén.



9. ábra: Bromát, klorid és nitrát anionok kísérleti úton meghatározott retenciós tényezői változó mátrixkoncentráció és NaOH-os elúció esetén.



10. ábra: Bromátion retenciós csúszása a szulfát-mátrix növekedésének hatására



11. ábra: Bromát anion számított retenciós tényezői különböző karbonát- és mátrix-koncentráció esetén.

4. Alifás karbonsavak retenciós profiljának tervezése és elválasztásának mechanizmusa latex alapú pellikuláris anioncserélő állófázisokon

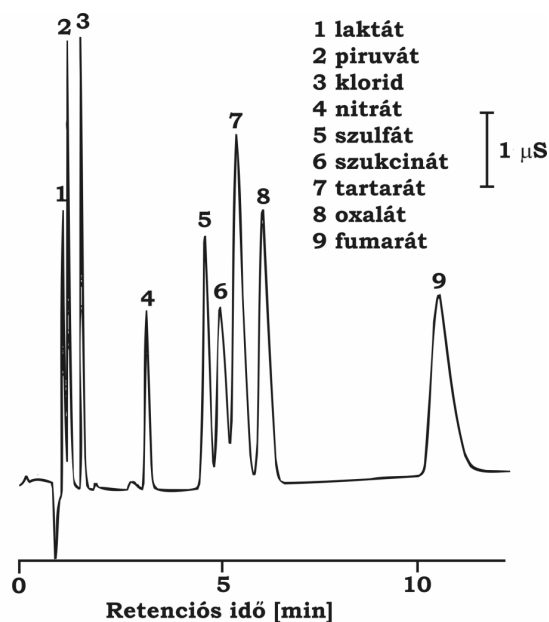
Szerves és szervesetlen anionok szimultán nagyhatékonyságú elválasztására (12. ábra) a latex-alapú pellikuláris anioncserélő (13. ábra) alkalmas. Összefüggést vezetünk le (3. egyenlet) alifás karbonsavak és szervesetlen anionok anion-kromatográfiás retenciójának leírására. A modell lehetőséget biztosít az egyes minta ionok eluensre vonatkozó szelektivitási állandóinak meghatározása mellett azok megkötődési állandóinak (2. táblázat) meghatározására is, továbbá az eluenskonzentráció retenciós hatásának követésére (14. ábra). Mindezek nélkülözhetetlenek az egyes anionok – beleértve az eluens anionját is – izotermáinak meghatározásához, melyek alapján az elválasztás lineáris és nemlineáris körülményei előre jósolhatók, az elválasztások optimalizálhatók. Kísérleti adatbázis alapján statisztikai számításokkal igazoltuk, hogy a modell megfelelő pontossággal írja le az egy és kétértékű, szerves és szervesetlen anionok retenciós viselkedését széles eluens koncentráció tartományban (15. ábra). Az analitikai elválasztások retenciós adatait (k') formiát, acetát, propionát, laktát, oxalát, malonát, szukcinát, tartarát, fumarát, maleinát szerves anionokra ill. klorid, nitrát és szulfát ionokra vonatkozóan vizsgáltuk. A retenciós modell kialakításánál új paramétert vezetünk be a szendvicsszerkezetből adódó elektrosztatikus tényezőt ($0 \leq w \leq 1$), amely a mintaionok és az állófázis kölcsönhatásait modellezi (ioncsere-, ionpár képzés).

$$k' = \frac{V_S}{V_0} K_A \left[\left(\frac{w \cdot Q_{tot}}{1 + K_{OH} [OH^-]} \right)^x + \left(\frac{(1-w) Q_{tot}}{K_{OH} [OH^-]} \right)^x \right] \quad (3)$$

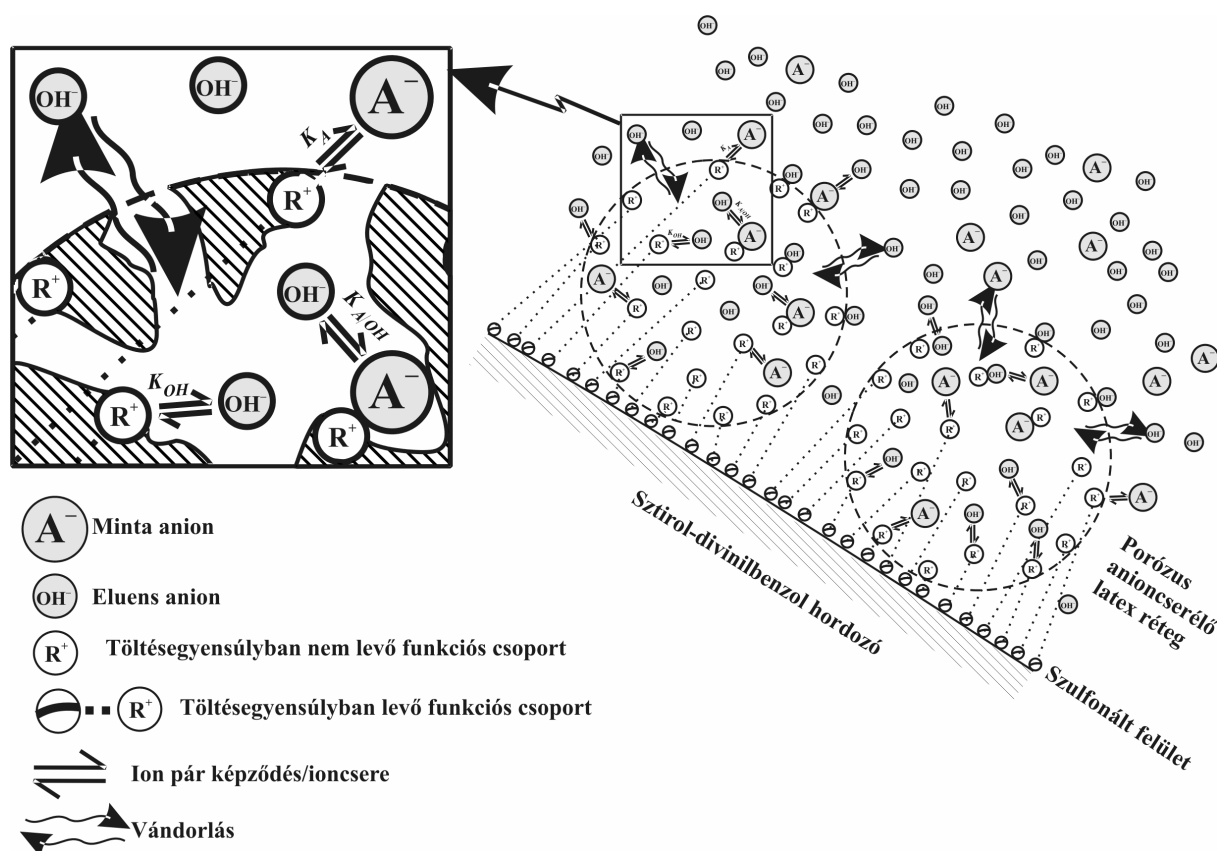
Q_{tot} ioncserekapacitás, K egyensúlyi állandók,
[OH] eluenskonzentráció, x mintaion töltés

Ennek következtében az állófázis ioncsere-kapacitásának, a kolonna megválasztásának hatását a várható retenciós tulajdonságokra becsülni lehetséges (ld. 16. ábra). A retenciós modell kialakításán túl, a fejlesztett módszer előnye elsősorban abban áll, hogy alkalmas a karbonsavak és szervesetlen anionok szimultán analitikai meghatározására. A két vegyületcsoport egyidejű, gyors meghatározása ugyanis csak lúgos elúcióval, és olyan vezetőképességi detektálással oldható meg, amelyek során ennek az eluensnek a vezetése elhanyagolható lesz és a mintaionok kromatográfiás detektálási jele domináns. Erre a nátrium-hidroxid eluens kationcserélő membránon történő semlegesítése adott lehetőséget. A módszer

sikeresen alkalmaztuk légköri aeroszoloiból származó oldatminták szerves és szervetlen anionjainak meghatározására.



12. ábra: Szerves és szervetlen anionok kromatogramja

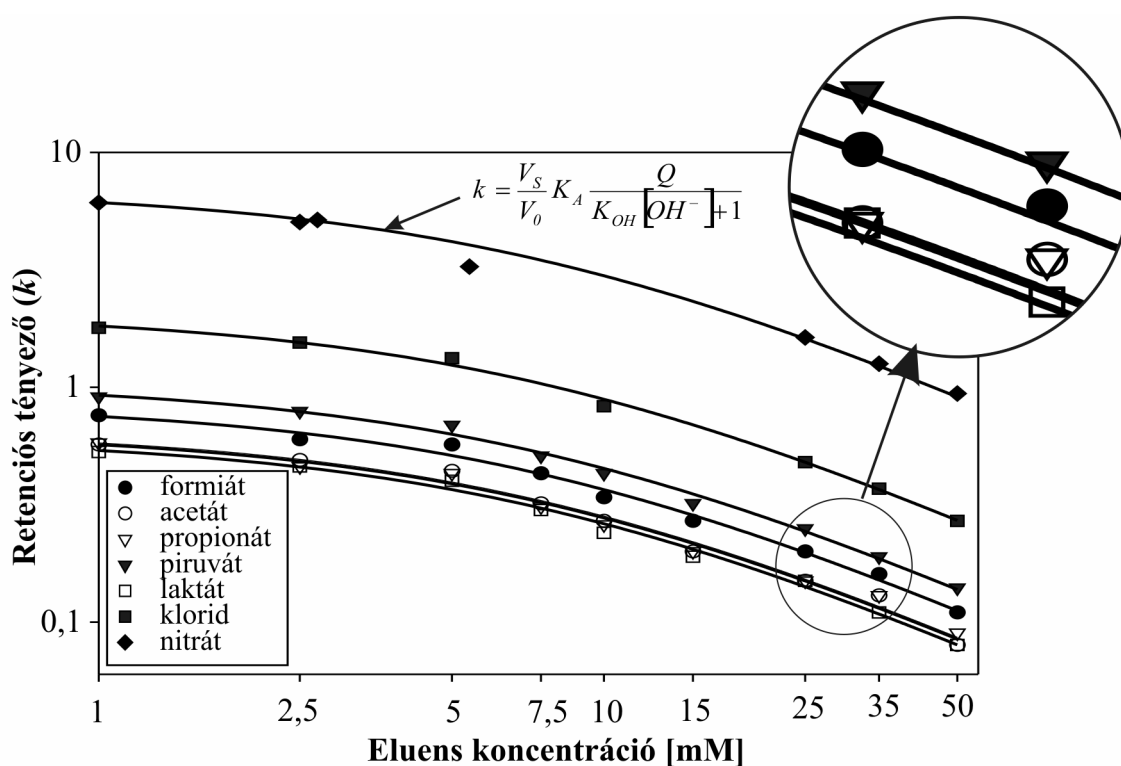


13. ábra: Retenciót befolyásoló szimultán kémiai egyensúlyi folyamatok latex állófázison

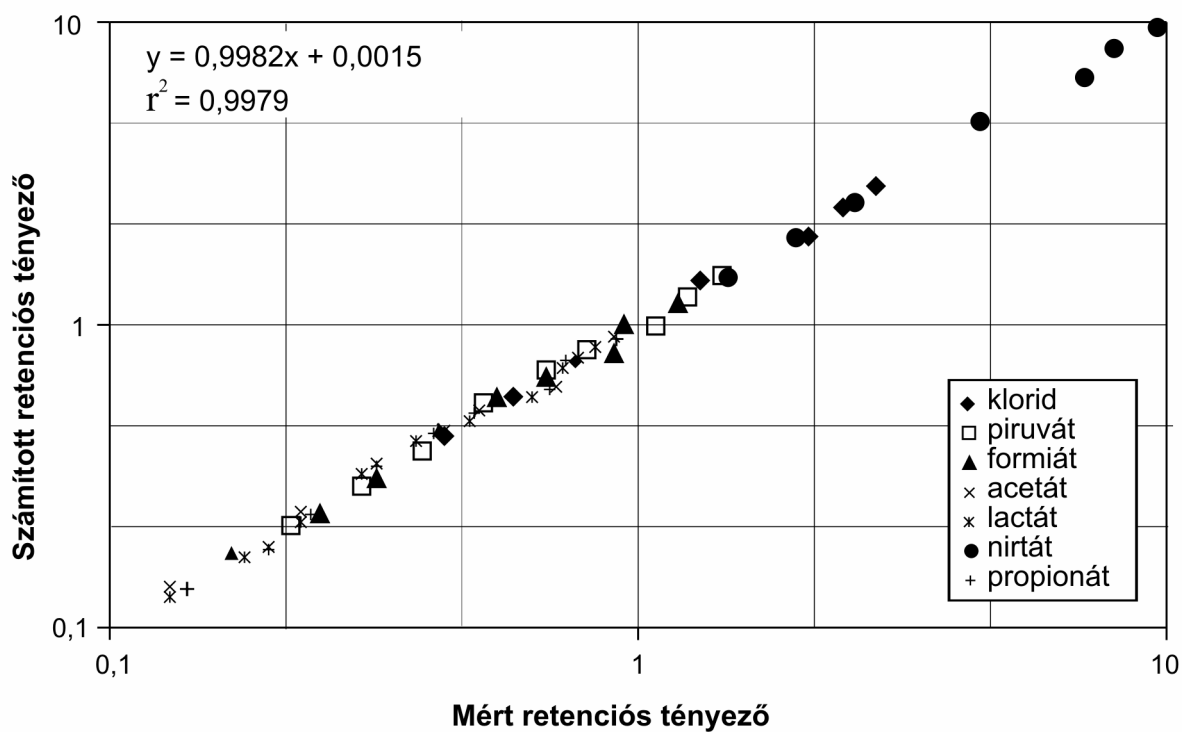
2. táblázat: A retenció modell iterációs úton meghatározott egyensúlyi paramétereit

	K_A	$K_{A/OH}$		$K_A \times 10^5$	$K_{A/OH}^*$
	átlag \pm sd			átlag \pm sd	
laktát	58,3 \pm 1,0	0,44 \pm 0,01	malonát	4,87 \pm 0,11	28,18 \pm 0,62
propionát	61,9 \pm 1,2	0,47 \pm 0,01	maleát	4,89 \pm 0,05	28,29 \pm 0,31
acetát	63,1 \pm 1,3	0,48 \pm 0,01	szukcinát	4,96 \pm 0,05	28,67 \pm 0,31
formiát	81,3 \pm 1,8	0,62 \pm 0,01	szulfát	5,02 \pm 0,09	29,05 \pm 0,55
piruvát	100,3 \pm 1,6	0,76 \pm 0,01	tartarát	5,99 \pm 0,19	34,67 \pm 1,11
klorid	198,0 \pm 3,1	1,51 \pm 0,02	oxalát	6,32 \pm 0,05	36,53 \pm 0,28
nitrát	663,1 \pm 9,9	5,04 \pm 0,07	fumarát	11,45 \pm 0,05	66,21 \pm 0,31
K_{OH}	131,5 \pm 2,7				
a	1,013 \pm 0,014				

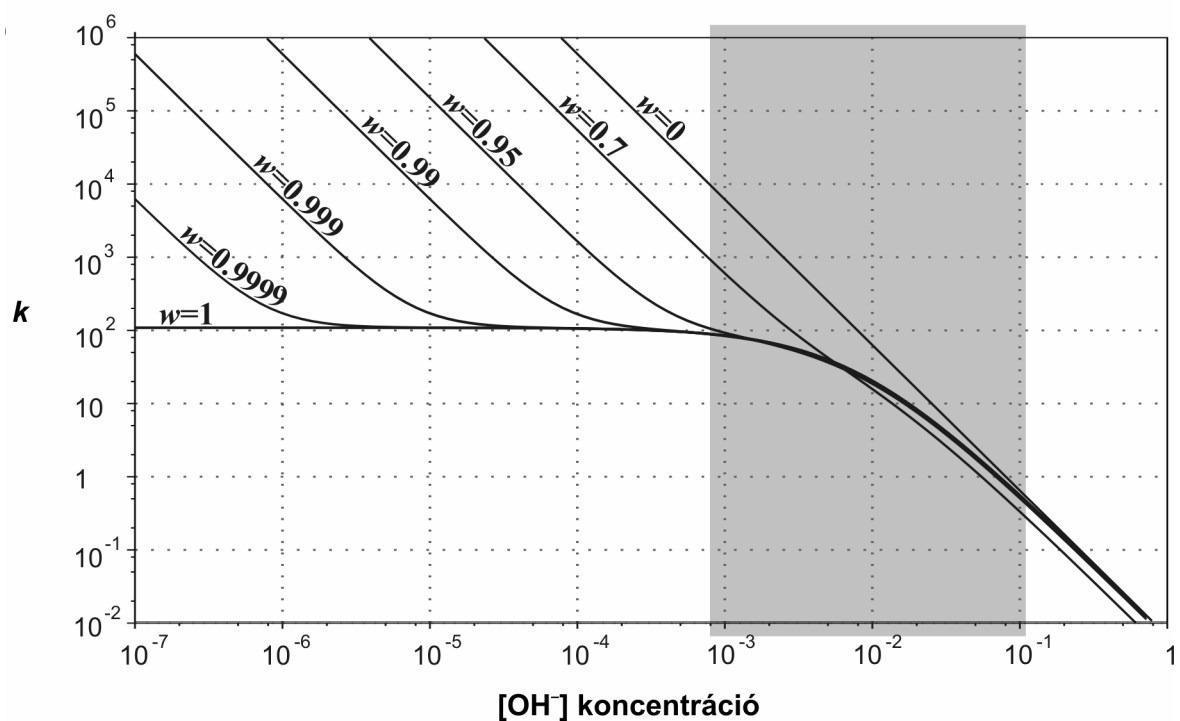
* ahol $K_{A/OH} = K_A K_{OH}^{-2}$



14. ábra: Egyértékű szerves és szervetlen anionok mért (pont) és számított (görbék) retenció tényezői



15. ábra: Mért és számított retenció adatok összehasonlítása



16. ábra: Oxalation retenció profiljainak számítása különböző elektrosztatikus koefficienssel jellemezhető állófázisokon. A szürke terület a gyakorlatban alkalmazható elúció koncentrációsávja.

5. Retenció kontrollja és csúcsalak leírása kémiai egyensúlyi és sztochasztikus elméletek kombinálásával

Megoldottuk a folyadékkromatográfia sztochasztikus és egyensúlyi retenció elméleteinek együttes leírásmódját és alkalmaztuk ion-kromatográfiás retenció adatok és a csúcsalakok előzetes becslésére, számítására. Alkalmazásának különös előnye az, hogy az eddigiekkel szemben nemcsak a retenció helyét, de a csúcsok alakját is leírja.

Szerves és szervetlen anionok (fluorid, formiát, klorid, bromid, nitrát, szulfát, oxalát, foszfát) retenció tulajdonságait vizsgáltuk különböző koncentrációjú és pH-jú karbonát/hidrogénkarbonát eluensrendszer alkalmazva. A csúcsalakok ismeretében megállapítottuk a sztochasztikus folyamatokat leíró paramétereket. A vizsgálatok során nyert retenció adatbázis alapján az egyensúlyi retenció modell paramétereit iterációs úton határoztuk meg. Ezek segítségével és a sztochasztikus modell paramétereinek felhasználásával szerves és szervetlen anionok kromatogramját jósoltuk nagy pontossággal. A kromatogram számítás lépései a következők (ld. még 17. ábrát is):

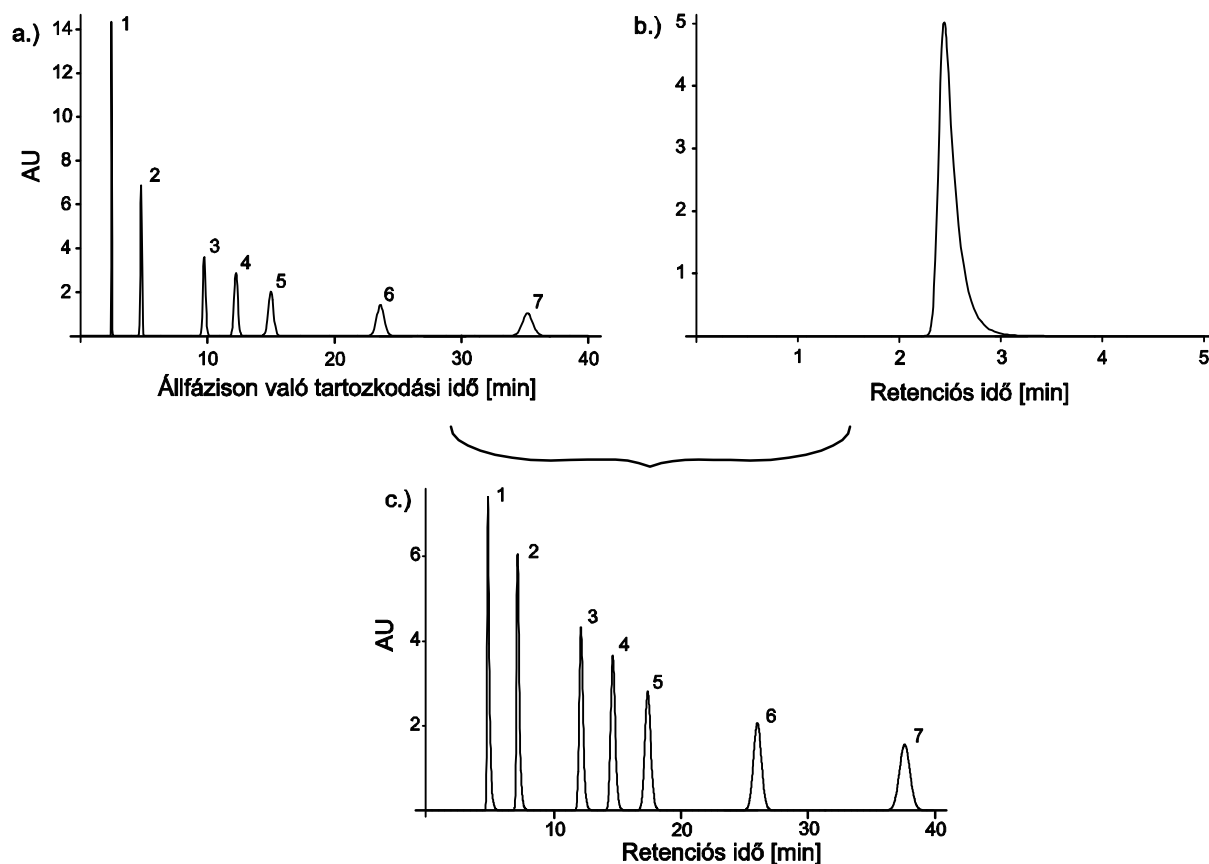
(1) m különböző típusú iont tartalmazó elegy kromatogramjának számítása kizárólag az állófázis csúcsszélesít hatásainak figyelembevételével (17. a. ábra)

$$P(t) = \sum_{i=1}^m \sqrt{\frac{n_i^2}{t k_i t_0}} e^{-n_i \left(1 + \frac{t}{k_i t_0}\right)} I_1 \left(\sqrt{\frac{4 n_i^2 t}{k_i t_0}} \right) \quad \text{ahol } P(t) \text{ az intenzitás függvény, } n \text{ megikötődések száma, } k \text{ retenció tényező, } t \text{ időskála} \quad (4)$$

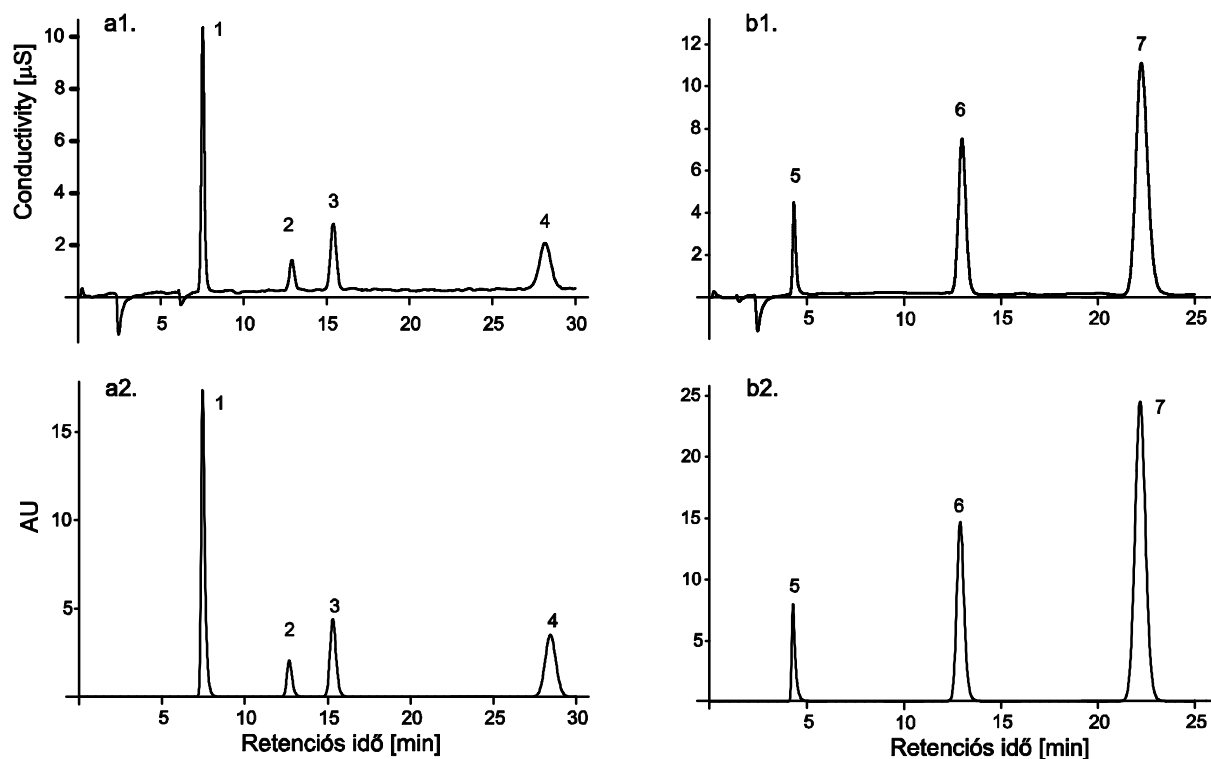
(2) a retenciót nem szenvedő komponens kromatográfiás csúcsának számítása (17. b. ábra),

(3) a két fenti kromatogram konvolúciója (17. c. ábra). A 18. ábrán két különböző összetételű, klorid, bromid, nitrát és szulfát (18. a1. és a2. ábra) ill. formiát, foszfát és oxalát (18. b1. és b2. ábra) tartalmú elegy számított és mért kromatogramjai láthatók.

Az elméleti modellel nemcsak a retenció adat, hanem a kinetikai tényezőkkel összefüggő csúcsalak is becsülhető, az elválasztás paramétereit optimalizálhatók és a becsült kromatogram megjeleníthető.



17. ábra: Kromatogram számítása a sztochasztikus elmélet és egyensúlyi modell együttes használatával. a.) a (4) összefüggés segítségével számított, az állófázis csúcsszélesítő hatásait hordozó, b.) a retenciót nem szenvedő komponens ill. c.) a fenti két kromatogram konvolváltja. (A csúcsok jelölését ld. a 18. ábrán.)



18. ábra: Szerves és szervetlen ionok mért (felül, a1, b1) és számított (alul, a2, b2) kromatogramjai. 1. klorid, 2. bromid, 3. nitrát és 4. szulfát (eluens: 13.0mM $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$, pH= 10,0.) ill. 5. formiát, 6. foszfát és 7. oxalát (eluens: 13.0mM $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$, pH= 11,0.) elegyek.